sebia

HYDRAGEL 7 PROTEIN(E)

Ref. 4100

HYDRAGEL 15 PROTEIN(E)

Ref. 4120

HYDRAGEL 30 PROTEIN(E)

Ref. 4140

IVD

CE

2009/12

UTILISATION

L'HYDRAGEL 7 PROTEIN(E) et l'HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 sont des gels d'agarose qui permettent la séparation en tampon alcalin (pH 9,2), des protéines du sérum humain et de l'urine, par électrophorèse dans le système semi-automatique HYDRASYS. Les protéines du sérum normal humain sont séparées en cinq fractions majeures.
Le système HYDRASYS permet de réaliser toutes les séquences jusqu'à l'obtention du gel prêt pour l'analyse qualitative ou quantitative. Les protéines séparées sont colorées par une solution d'amidoschwarz et l'excès de colorant est éliminé en milieu acide. Les profils électrophorétiques sont analysés visuellement pour détecter les anomalies. La densitométrie donne une quantification relative précise de chaque zone individualisée.

Chaque gel d'agarose est prévu pour l'analyse de :
- 7 échantillons pour le kit HYDRAGEL 7 PROTEIN(E),
- 15 échantillons pour le kit HYDRAGEL 15 PROTEIN(E),
- 30 échantillons pour le kit HYDRAGEL 30 PROTEIN(E).

À usage *in vitro* exclusivement.

PRINCIPE DU TEST[1-16]

L'électrophorèse des protéines du sérum ou d'autres liquides biologiques humains est une analyse très utile en laboratoire d'analyses cliniques pour rechercher les modifications du profil protéique. Des techniques d'électrophorèse de zone ont été développées, sur différents supports, chacun donnant un fractionnement des protéines sériques en fonction de leur charge, dans un tampon de pH donné. L'agarose, d'utilisation très facile, a été choisi comme support. Il donne une séparation des constituants sériques humains en cinq fractions de mobilité différente : albumine, alpha-1 globulines, alpha-2 globulines, bêta globulines et gamma globulines. Chaque zone contient un ou plusieurs constituants sériques. Le profil électrophorétique de l'urine ressemble à celui du sérum. Néanmoins, la présence et l'intensité relative des fractions dépendent fortement de la capacité de filtration des reins.

RÉACTIFS FOURNIS DANS LES KITS HYDRAGEL 7, 15 ET 30 PROTEIN(E)

COMPOSANTS	RÉF. N° 4100	RÉF. N° 4120	RÉF. N° 4140
Gels d'agarose (prêts à l'emploi)	10 gels	10 gels	10 gels
Mèches tamponnées (prêtes à l'emploi)	10 sachets de 2	10 sachets de 2	10 sachets de 2
Diluant colorant (solution concentrée)	1 fl. de 60 ml	1 fl. de 60 ml	1 fl. de 60 ml
Colorant amidoschwarz (solution concentrée)	1 fl. de 20 ml	1 fl. de 20 ml	1 fl. de 20 ml
Applicateurs (prêts à l'emploi)	1 boîte de 10 (7 dents)	1 boîte de 10 (15 dents)	2 boîtes de 10 (15 dents)
Papiers-filtres fins	1 sachet de 10	1 sachet de 10	1 sachet de 10

POUR DES RÉSULTATS OPTIMUMS :
Les éléments d'un même kit doivent être utilisés ensemble et selon les instructions de la notice.
LIRE ATTENTIVEMENT LA NOTICE D'UTILISATION.

1. GELS D'AGAROSE

Préparation
Les gels d'agarose sont prêts à l'emploi. Chaque gel contient : agarose, 8 g/l ; tampon tris-barbital, pH 9,2 ± 0,1 ; composants sans danger aux concentrations utilisées, nécessaires pour des performances optimales.

ATTENTION : Les gels contiennent 0,31 % de barbital et 0,34 % de barbital sodé. Ne pas avaler ! En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin !

Utilisation
Support pour l'électrophorèse des protéines.

Conservation, stabilité et signes de détérioration
Les gels doivent être conservés à température ambiante (de 15 à 30 °C) ou au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Ils sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur le sachet du gel. Les gels doivent être conservés horizontalement dans leur sachet de protection (la flèche sur le devant du kit doit être pointée vers le haut). Ne pas stocker les gels à proximité d'une fenêtre ou d'une source de chaleur. Éviter toute variation brutale de température.
NE PAS CONGELER.
Éliminer le gel dans les cas suivants :
(I) apparition de cristaux, de précipité en surface du gel ou texture du gel très molle (indiquant que le gel a gelé) ;
(II) apparition de bactéries ou de moisissures ;
(III) présence anormale de liquide dans la boîte du gel (indiquant une exsudation du gel liée à de mauvaises conditions de conservation).

2. MÈCHES TAMPONNÉES

Préparation
Les mèches en éponge tamponnées sont prêtes à l'emploi. Chaque mèche tamponnée contient : tampon tris-barbital, pH 9,2 ± 0,3 ; azoture de sodium ; composants sans danger aux concentrations utilisées, nécessaires pour des performances optimales.

ATTENTION : Les mèches tamponnées contiennent 0,92 % de barbital, 1,03 % de barbital sodé et 0,3 % d'azoture de sodium. Ne pas avaler ! En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin ! L'azoture de sodium peut former des complexes explosifs ou toxiques en cas de contact avec des acides, du plomb ou du cuivre. Au moment de l'élimination des mèches, éviter tout contact avec ces produits.

Utilisation
Les mèches en éponge tamponnées jouent un rôle de réservoir de tampon pour l'électrophorèse et assurent le contact entre le gel et les électrodes.

Conservation, stabilité et signes de détérioration
Les mèches tamponnées peuvent être conservées à température ambiante ou au réfrigérateur.
Elles doivent être conservées horizontalement dans leur sachet de protection (la flèche sur le devant du kit doit être pointée vers le haut).
Elles sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur le sachet des mèches tamponnées. NE PAS CONGELER.
Éliminer les mèches tamponnées si le sachet est ouvert ou si les mèches sont sèches.

3. DILUANT COLORANT

Préparation
Le diluant colorant concentré doit être utilisé comme décrit dans le paragraphe " COLORANT AMIDOSCHWARZ ". Il contient une solution acide.

Utilisation
Pour la préparation du colorant amidoschwarz.

Conservation, stabilité et signes de détérioration
Le diluant colorant concentré peut être conservé à température ambiante ou au réfrigérateur. Il est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de diluant. NE PAS CONGELER.
Ne pas ajouter d'azoture de sodium.

4. COLORANT AMIDOSCHWARZ

Préparation
Le colorant amidoschwarz concentré est une solution visqueuse qui peut éventuellement gélifier, ce qui n'affecte absolument pas la qualité de la solution finale et son pouvoir de coloration.
Dans tous les cas, pour obtenir une parfaite reconstitution du colorant, il faut respecter le protocole suivant :

1. Ajouter environ 15 mL de diluant colorant au flacon d'amidoschwarz concentré.
2. Refermer soigneusement le flacon.
3. Agiter très vigoureusement le flacon pendant au minimum 5 secondes.
4. Verser la solution obtenue dans le récipient de préparation de la solution de coloration.
5. Renouveler cette opération deux fois, trois fois, si nécessaire.
6. Verser le reste du diluant dans le récipient de préparation de la solution de coloration.
7. Compléter à 300 mL avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
8. Agiter parfaitement cette solution pendant 5 à 10 minutes.

Le colorant est prêt à l'emploi.

REMARQUE : Une reprise incomplète du colorant peut entraîner une mauvaise coloration de la fraction albumine (baisse du pourcentage ou trou blanc dans la fraction).

Après dilution, la solution colorante contient : solution acide pH ≈ 2 ; amidoschwarz, 4 g/L ; éthylène-glycol, 6,7 % ; composants sans danger aux concentrations utilisées, nécessaires pour des performances optimales.

ATTENTION : Nocif en cas d'ingestion.

Utilisation
Pour la coloration des gels après séparation électrophorétique des protéines.

IMPORTANT : Le colorant est uniquement destiné à la coloration de 10 gels. Renouveler le colorant après 10 utilisations.

Conservation, stabilité et signes de détérioration
Les solutions de colorant concentrée et diluée peuvent être conservées à température ambiante ou au réfrigérateur en flacons fermés pour éviter l'évaporation. La solution concentrée est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de colorant.
La solution diluée est stable pendant 1 mois. La période de stabilité peut être prolongée à 3 mois si la solution diluée est conservée au réfrigérateur.
Il est impératif de replacer le flacon fermé au réfrigérateur, immédiatement après chaque utilisation.
Ne pas stocker la solution de colorant diluée à proximité d'une source de chaleur.

5. APPLICATEURS

Utilisation
Applicateurs prédécoupés, à usage unique pour le dépôt des échantillons.

Conservation
Les applicateurs doivent être conservés dans un endroit sec à température ambiante ou au réfrigérateur.

6. PAPIERS-FILTRES FINS

Utilisation
Feuilles de papier-filtre, à usage unique pour l'absorption de l'excès de liquide à la surface du gel avant l'application des échantillons.

Conservation
Les papiers-filtres fins doivent être conservés dans un endroit sec à température ambiante ou au réfrigérateur.

RÉACTIFS NÉCESSAIRES NON FOURNIS

1. DÉCOLORANT

Préparation
Chaque flacon de décolorant concentré (SEBIA, référence N° 4540 : 10 flacons de 100 ml chacun) doit être dilué au 1/1 000 avec de l'eau distillée ou déminéralisée, il permet d'obtenir 100 litres de solution décolorante. Prélever par quantité de 5 ml et compléter à 5 litres avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
Après dilution, la solution décolorante contient : acide citrique, 0,5 g/l.

Utilisation
Pour la décoloration, c'est-à-dire l'élimination de l'excès de colorant après coloration du gel.
Pour le rinçage de la cuve de coloration après lavage.
Pour neutraliser l'acidité du décolorant, mettre dans le flacon de vidange vide, 15 ml de soude à 50 % (solution du commerce).

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Le décolorant concentré peut être conservé à température ambiante ou au réfrigérateur. Il est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de décolorant. NE PAS CONGELER. Le décolorant dilué est stable pendant 1 semaine à température ambiante, en flacon fermé.
Éliminer le décolorant dilué s'il y a un changement d'aspect ou apparition d'un trouble dû à une contamination microbienne.
Ne pas ajouter d'azoture de sodium.
En cas de conservation prolongée (au delà d'une semaine) de la solution diluée, ajouter 50 µl/l de ProClin 300 pour prévenir toute prolifération microbienne.
Le décolorant dilué contenant du ProClin est stable en flacon fermé à température ambiante ou au réfrigérateur jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de décolorant.

2. SOLUTION DE LAVAGE HYDRASYS

Préparation

Chaque flacon de solution de lavage HYDRASYS concentrée (SEBIA, référence N° 4541 : 10 flacons de 80 ml chacun) doit être complété à 5 litres avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
Après dilution, la solution de lavage contient : tampon alcalin, pH 8,8 ± 0,3 ; azoture de sodium.

ATTENTION : La solution de lavage concentrée contient 0,625 % d'azoture de sodium. Ne pas avaler ! En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin ! L'azoture de sodium peut former des complexes explosifs ou toxiques en cas de contact avec des acides, du plomb ou du cuivre. Au moment de l'élimination des solutions, laver abondamment avec une grande quantité d'eau.

Utilisation

Pour le lavage périodique de la cuve de coloration de l'HYDRASYS : Par exemple, pour une utilisation journalière, effectuer un lavage hebdomadaire de la cuve de coloration.

Voir la notice de la solution de lavage pour les instructions d'utilisation.

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Les solutions de lavage concentrée et diluée peuvent être conservées à température ambiante ou au réfrigérateur en flacons fermés. Elles sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le kit ou sur l'étiquette du flacon de solution de lavage.
Éliminer la solution de lavage diluée s'il y a un changement d'aspect ou apparition d'un trouble dû à une contamination microbienne.

3. FLUIDIL

Préparation

Le Fluidil (SEBIA, référence N° 4587 : 1 flacon de 5 ml) est prêt à l'emploi.

Utilisation

Pour la dilution des échantillons visqueux ou troubles (turbidité induite par la présence d'une cryoglobuline ou d'un cryogel).

Conservation, stabilité et signes de détérioration

Le Fluidil peut être conservé à température ambiante. Il est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du flacon de Fluidil.
Il ne doit pas y avoir de précipité.

ÉQUIPEMENT ET ACCESSOIRES NÉCESSAIRES

1. Système HYDRASYS SEBIA, référence N° 1200, N° 1201, N° 1202, N° 1203, N° 1210 ou N° 1211.
2. Micropipetteur, manuel ou automatique, tel que HYDRAPLUS SEBIA, référence N° 1216 ou HYDRAPLUS 2 SEBIA, référence N° 1217, pour le chargement des applicateurs.
3. Chambre humide, référence N° 1270, fournie avec le système HYDRASYS.
4. Bidons plastiques fournis avec le système HYDRASYS.
5. Pipettes de 10 µl et 200 µl.
6. Densitomètre / scanner capable de lire un film de 82 x 51 mm ou 82 x 102 mm à 570 nm (filtre jaune) : HYRYS SEBIA, GELSCAN SEBIA, DVSE SEBIA ou scanner équipé du logiciel PHORESIS SEBIA. Se reporter aux instructions de chaque appareil pour son utilisation et sa calibration.
7. Porte-film pour le traitement des demi-gels SEBIA, référence N° 1278.

ÉCHANTILLONS À ANALYSER

Prélèvement et conservation des échantillons

L'analyse se fait sur échantillons frais. Les sérums ou les urines doivent être prélevés selon la procédure utilisée pour tout test de laboratoire d'analyses cliniques.
Les échantillons peuvent être conservés une semaine au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Pour des conservations prolongées, congeler les échantillons ; les échantillons congelés sont stables au minimum 1 mois.
La conservation des sérums congelés est améliorée par addition à l'échantillon d'azoture de sodium 0,2 g/l.
La conservation des urines congelées est améliorée par addition à l'échantillon de tampon HEPES 0,1 M (pH 6,75) et d'azoture de sodium 0,2 g/l.

IMPORTANT : Ne pas utiliser de conservateur contenant de l'acide borique.

Les échantillons décongelés peuvent donner, au point de dépôt, une trace due à la dénaturation de protéines ou de lipoprotéines.
Plus le sérum vieillit, plus les bêta lipoprotéines sont anodiques. De même, après congélation, les bêta lipoprotéines sont beaucoup plus anodiques que sur sérums frais : leur migration varie de la zone bêta à la zone alpha-2 voire alpha-1.

Préparation des échantillons

1. *Sérums*
   Utiliser directement les échantillons de sérum non dilués.
   Après conservation au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C) ou congélation, certains sérums (en particulier ceux qui contiennent une cryoglobuline ou un cryogel) deviennent visqueux ou troubles. Ces sérums présentent des difficultés de manipulation lors du dépôt avec l'applicateur HYDRASYS, car ils ne diffusent que très difficilement sur les dents de l'applicateur. Prétraiter ces sérums avec le Fluidil : ajouter 25 µl de Fluidil à 75 µl de sérum, agiter 15 secondes au vortex, puis suivre la technique.

2. *Urines concentrées*
   L'analyse est réalisée sur des échantillons dont la concentration protéique est ramenée à environ 15 - 20 g/l par concentration au moyen d'un dispositif approprié.

   IMPORTANT : Certaines urines contiennent une concentration importante de sels. Il s'ensuit une déformation du gel au cours de la migration qui risque de conduire à une perturbation des profils après électrophorèse. Il convient d'éliminer cet excès de sels par une dialyse.

   NOTE : En cas d'urines troubles (concentrées ou non), il est recommandé d'éliminer les particules en centrifugeant les échantillons (pendant 10 minutes à 3000 rpm) ou par filtration (sur filtre de 0,45 µm) afin d'obtenir une bonne diffusion sur les applicateurs.

Échantillons à éviter

- Ne pas utiliser d'échantillon hémolysé. L'hémolyse entraîne une augmentation des zones alpha-2 et bêta.
- Ne pas utiliser de plasma. Le fibrinogène donne une bande proche du point de dépôt. Cette bande peut fausser l'interprétation du test (confusion avec une gammapathie et augmentation du pourcentage de la fraction correspondante).
- Ne pas utiliser les échantillons d'urine anciens ou conservés dans de mauvaises conditions, des dégradations enzymatiques peuvent les altérer.

TECHNIQUE

Le système HYDRASYS est un instrument multiparamétrique semi-automatique qui assure le traitement des HYDRAGEL selon les étapes suivantes : application des échantillons, migration électrophorétique, séchage, coloration, décoloration et séchage final.
Les étapes manuelles sont les suivantes : préparation des échantillons et du gel, lancement des séquences automatiques.
LIRE ATTENTIVEMENT LE MANUEL D'INSTRUCTIONS D'HYDRASYS / HYDRASYS 2.

I. PRÉPARATION DE LA MIGRATION

1. Mettre HYDRASYS sous tension.
2. Poser un applicateur pour HYDRAGEL 7 PROTEIN(E) (7 échantillons) et HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 (15 échantillons), ou deux applicateurs pour HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 (30 échantillons), à plat sur la paillasse, numérotations (puits) vers le haut (Fig. 1).
   - Déposer 10 µl de sérum pur ou d'urine concentrée dans chaque puits ; le chargement de chaque applicateur ne doit pas excéder 2 minutes.
   - Placer l'(es) applicateur(s) dans la chambre humide, dents vers le haut (en manipulant l'(es) applicateur(s) par la protection en plastique). Laisser diffuser 5 minutes après le dépôt du dernier échantillon. Pour une conservation prolongée (8 heures maximum), placer la chambre humide au réfrigérateur.

   Voir la notice de la chambre humide pour les instructions d'utilisation.
3. Ouvrir le capot du module de migration et relever les chariots porte-applicateurs et porte-électrodes.
   ATTENTION : Ne pas fermer le capot de l'appareil si les chariots sont relevés !
4. Sélectionner le programme de migration "7 PROTEIN(E)" pour HYDRAGEL 7 PROTEIN(E) ou "15/30 PROTEIN(E)" pour HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 dans le menu.
5. Sortir les mèches tamponnées de leur emballage en les manipulant par les languettes plastiques. Fixer les mèches sur le chariot porte-électrodes à l'aide des languettes perforées. La face de la mèche fixée sur la languette vient en contact avec l'électrode (Fig. 2).
6. Sortir le gel de son emballage.
   - Éliminer rapidement l'excès de liquide en surface, en effleurant le gel avec un papier-filtre fin.
     ATTENTION : Ne surtout pas laisser le papier-filtre en contact prolongé avec le gel pour éviter sa déshydratation.
   - Déposer 120 µl d'eau distillée ou déminéralisée pour HYDRAGEL 7 PROTEIN(E) ou 200 µl pour HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30, sur le plateau de migration dans le tiers inférieur du cadre sérigraphié.
   - Placer le gel (face gel orientée vers le haut) sur le plateau contre la barrette, à l'intérieur du cadre sérigraphié (Fig. 3).
   - Donner une forme concave au gel (Fig. 3) et le dérouler sur le plateau jusqu'au contact de la goutte d'eau qui doit se répartir sur toute la largeur du gel. Relever légèrement le gel pour éliminer les bulles d'air éventuellement piégées puis dérouler totalement le gel au contact du plateau. La goutte d'eau doit s'étaler sous toute la surface du film.
7. Abaisser l'ensemble des chariots jusqu'en butée. Dans cette position, les mèches ne touchent pas le gel. NE PAS FORCER LA DESCENTE DES CHARIOTS.
8. Sortir l'(es) applicateur(s) de la chambre humide en le(s) manipulant par la protection plastique.
   - Éliminer la protection des dents.
   - Pour l'analyse de 7 et de 15 échantillons, placer l'applicateur en position N° 6 sur le porte-applicateurs.
   - Pour l'analyse de 30 échantillons, placer les applicateurs en positions N° 3 et 9 sur le porte-applicateurs.

   IMPORTANT : Les numérotations de l'applicateur sont toujours dirigées vers l'opérateur (Fig. 4).
9. Fermer le capot du module de migration.
10. Démarrer immédiatement la séquence en appuyant sur "START".
    IMPORTANT : Ne rien placer à proximité immédiate des grilles de ventilation.

MIGRATION - DESCRIPTION DES SÉQUENCES AUTOMATIQUES

- Descente des chariots porte-électrodes et porte-applicateurs pour amener les mèches tamponnées et l'(es) applicateur(s) au contact du gel.
- Remontée du chariot porte-applicateurs.
- Migration à 10 W constants pour HYDRAGEL 7 PROTEIN(E), ou à 20 W constants pour HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30, à 20 °C, température contrôlée par effet Peltier, jusqu'à 33 Vh accumulés (pendant environ 7 minutes).
- Déconnexion des électrodes par remontée du chariot porte-électrodes.
- Séchage du film pendant 10 minutes à 65 °C, par montée en température du plateau.
- Refroidissement du plateau, quand la température du plateau atteint 50 °C, un signal sonore (bip) retentit et la sécurité du capot du module de migration se débloque. Le plateau reste à 50 °C jusqu'à l'ouverture du capot. Après ouverture, la température baisse jusqu'à 20 °C (en moins de 5 minutes). Une nouvelle migration peut alors être lancée.

  NOTE : Pendant toutes les séquences de migration, le capot du module de migration reste verrouillé.

II. PRÉPARATION DES SÉQUENCES DE TRAITEMENT DU GEL

1. Ouvrir le capot du module de migration.
2. Retirer l'(es) applicateur(s) et le(s) jeter.
3. Relever les chariots porte-applicateurs et porte-électrodes, retirer les mèches par les languettes et les jeter.
4. Récupérer le film pour le traitement suivant.

5. Nettoyer les électrodes et le plateau de migration avec un papier ouaté humide.
6. Placer le film sur le porte-film, face gel vers l'opérateur, en procédant comme suit (Fig. 5) :
   - ouvrir le porte-film ;
   - le poser à plat sur la paillasse ;
   - positionner le gel dans les gorges des colonnettes ;
   - refermer le porte-film ;
   - s'assurer que le film soit bien enfoncé dans les gorges des deux colonnettes.
7. Introduire le porte-film dans le module de traitement / coloration du gel.

   IMPORTANT : Avant de lancer un cycle de coloration, s'assurer que :
   - le flacon de colorant contienne 300 ml de colorant ;
   - le flacon de décolorant contienne 1 litre de décolorant minimum ;
   - le flacon de vidange soit vide.

   Pour le branchement des canaux réactifs : se référer aux instructions affichées sur l'écran de l'appareil (sélectionner la touche : "VISU CANAUX" / "VISUALISATION CANAUX").

   IMPORTANT : Ne pas oublier d'obturer les canaux non utilisés.
8. Sélectionner le programme de coloration "PROTEIN(E)/ß1-ß2" dans le menu.
   - Démarrer la séquence en appuyant sur "START".

   Pendant toutes les séquences de coloration, décoloration et séchage, le système reste verrouillé.
   Après refroidissement de la cuve, un signal sonore (bip) retentit et le système se débloque (la ventilation se maintient jusqu'à la récupération du porte-film).

III. FIN DU TRAITEMENT DU GEL

1. Sortir le porte-film du compartiment ; ouvrir le porte-film et retirer le gel sec.

NOTE : Si des taches bleues résiduelles sont observées sur le gel après coloration / décoloration, une étape de lavage supplémentaire avec le programme "LAV. ISOENZ/GEL" / "LAVAGE ISOENZ/GEL" permet de les éliminer ou de les atténuer fortement (selon leur intensité) avant lecture au densitomètre / scanner.

2. Si nécessaire, nettoyer le dos du gel (support plastique) avec un papier ouaté humide.
3. Lire au densitomètre / scanner à 570 nm ou avec un filtre jaune.

NOTE : Pour les gels à rangées multiples (2 ou 3), les longueurs de migration peuvent être sensiblement différentes, sans aucune conséquence sur les résultats.

RÉSULTATS

Contrôle Qualité

Pour chaque série d'analyses, il est recommandé d'inclure un sérum de contrôle (tel que le Sérum de Contrôle SEBIA, référence N° 4785).

Valeurs

La lecture à 570 nm par densitométrie permet de définir les concentrations relatives (pourcentages) de chaque fraction.

Les valeurs normales (moyenne ± 2 écarts types) pour chaque fraction sérique sur gel HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30, ont été établies à partir d'une population de 158 adultes (hommes et femmes), en bonne santé.
La quantification des protéines en UV sur CAPILLARYS donne des valeurs similaires à la néphélémétrie (en particulier pour l'albumine). SEBIA propose donc une standardisation des valeurs obtenues sur HYDRAGEL en réalisant une calibration des systèmes de lecture.

	Valeurs sans standardisation	Valeurs standardisées sur CAPILLARYS
FRACTION	**HYRYS - GELSCAN - DVSE - PHORESIS**	**HYRYS - GELSCAN - DVSE - PHORESIS**
Albumine	59,8 - 72,4 %	53,8 - 65,2 %
Alpha-1 globulines	1,0 - 3,2 %	1,1 - 3,7 %
Alpha-2 globulines	7,4 - 12,6 %	8,5 - 14,5 %
Bêta globulines	7,5 - 12,9 %	8,6 - 14,8 %
Gamma globulines	8,0 - 15,8 %	9,2 - 18,2 %

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales.

Interprétation[1-16]

Sur certains échantillons, la zone alpha-2 peut présenter un léger dédoublement selon l'intensité et la mobilité des fractions qui la composent, voir PROFIL ÉLECTROPHORÉTIQUE.

- Certains sérums ont des phénotypes différents d'haptoglobine ou de GC globuline.
- La position de l'alpha-1 lipoprotéine dépend de sa concentration et de la conservation de l'échantillon.

Pour des informations complémentaires sur l'interprétation des profils électrophorétiques obtenus, voir BIBLIOGRAPHIE.

Interférences et limites

Les lipoprotéines LDL et HDL sont des molécules complexes de mobilité naturelle très variable allant de la zone bêta à la zone alpha-2.
Pour éviter des difficultés d'intégration et d'interprétation, les gels HYDRAGEL ont une composition particulière qui positionne généralement les HDL en zone alpha-2 et les LDL en zone bêta.
Cependant, cette migration est très sensible aux facteurs suivants :

- fraîcheur de l'échantillon,
- concentration en lipoprotéines,

- traitement médicamenteux (par exemple à l'héparine),
- état d'hydratation du gel (conservation du gel),
- variations, mêmes très faibles, des matières premières.

Pour ces différentes raisons, il peut être observé un léger déplacement anodique de ces lipoprotéines qui deviennent plus apparentes ou qui entraînent un élargissement, voire un dédoublement de la zone alpha-2 et/ou de la zone bêta.

1) Les pourcentages des fractions alpha-2 et bêta restent totalement inchangés malgré le léger dédoublement dû à la variation de mobilité électrophorétique.
2) La forme caractéristique de la fraction bêta-lipoprotéine (avec une importante focalisation et une forme irrégulière) ne peut en aucun cas provoquer une erreur d'interprétation, seul l'aspect est différent.

Voir **ÉCHANTILLONS À ANALYSER**.
Compte-tenu des principes analytiques des techniques actuelles (principes de l'électrophorèse de zone, résolution et sensibilité), aucune garantie ne peut être donnée quant à la détection totale de toutes les composantes monoclonales.

Assistance technique

Contacter le Service Technique SEBIA en cas de test défectueux.
Les fiches de données de sécurité des différents réactifs du kit ainsi que les informations relatives à l'élimination des déchets sont disponibles auprès du Service Technique SEBIA.

PERFORMANCES

Analyse des sérums

Reproductibilité intra-essai

Migration de trois (3) échantillons différents de sérum sur 3 gels HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 d'un même lot. Les moyennes, écarts types (ET) et coefficients de variation (CV%) (n = 15) sont calculés pour chaque échantillon et chaque fraction.
Le tableau suivant présente les résultats obtenus pour les 3 échantillons :

FRACTION	MOYENNE (%)			ET			CV (%)		
Sérum	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Albumine	70,4	68,8	65,9	0,2	0,7	0,6	0,3	1,0	0,9
Alpha-1	1,9	1,9	1,3	0,1	0,1	0,1	3,5	3,9	7,3
Alpha-2	9,9	9,4	7,6	0,2	0,2	0,2	1,6	2,6	2,4
Bêta	10,6	8,6	7,8	0,4	0,3	0,1	3,3	3,5	1,8
Gamma	7,2	11,4	17,4	0,2	0,3	0,3	3,4	2,8	2,0

Reproductibilité inter-essais

Migration de quinze (15) échantillons différents de sérum sur 5 gels HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 d'un même lot. Les coefficients de variation moyens (CV), écarts types (ET) et coefficients de variation (n = 5) sont calculés pour chaque échantillon et chaque fraction.
Les résultats sont sensiblement les mêmes pour tous les échantillons.
Le tableau suivant présente les valeurs extrêmes d'écart type et de coefficient de variation représentant tous les échantillons et un coefficient de variation moyen calculé à partir de l'ensemble de tous les coefficients de variation de tous les échantillons (n = 15).

FRACTION	ET	CV (%)	CV MOYEN (%)
Albumine	0,2 – 0,9	0,3 – 1,4	0,8
Alpha-1	0,1 – 0,2	2,1 – 9,8	4,6
Alpha-2	0,1 – 0,3	0,9 – 3,1	1,8
Bêta	0,1 – 0,3	1,1 – 3,8	2,0
Gamma	0,1 – 0,5	1,3 – 5,6	2,9

Exactitude

Migration de quatre vingt dix échantillons différents (sérums normaux et pathologiques) sur gels HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 et sur un autre système d'agarose disponible dans le commerce.
Les paramètres de corrélation entre les deux systèmes de gel (y-HYDRAGEL) pour chaque fraction sont :

Fraction	Coefficient de corrélation	Intersection-y	Pente	Limites des valeurs de %*
Albumine	0,983	3,673	0,942	54,9 - 72,9
Alpha-1	0,984	0,937	0,972	1,2 - 6,7
Alpha-2	0,984	0,635	0,977	7,6 - 16,5
Bêta	0,953	-0,071	0,984	6,9 - 15,0
Gamma	0,976	-0,435	1,033	6,0 - 18,9

** Les valeurs sont définies dans le système HYDRAGEL 15 & 30 PROTEIN(E).*

Sensibilité

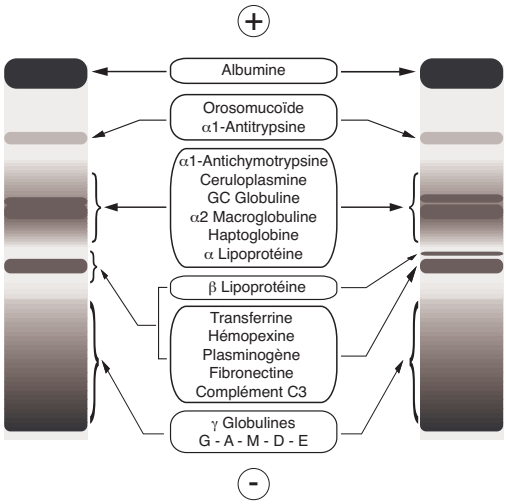
Un sérum pathologique avec une protéine monoclonale à 21,2 g/l est dilué en série puis les dilutions sont analysées sur gel HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30. Après analyse qualitative à l'œil nu, la plus forte dilution permettant de voir la bande monoclonale est le 1/128. La plus faible concentration d'une bande monoclonale détectée est donc de l'ordre de 0,17 g/l.

NOTE : Selon la position de la bande monoclonale et le fond polyclonal de la zone des gammaglobulines, le seuil de détection d'une paraprotéine peut varier.

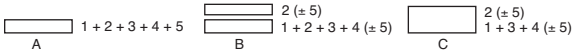
Analyse des urines concentrées

Les résultats obtenus sur gel HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 après analyse quantitative et qualitative indiquent une très bonne répétabilité et reproductibilité des kits HYDRAGEL 15 & 30 PROTEIN(E) pour tous les aspects testés. L'analyse qualitative de 28 échantillons différents par électrophorèse sur gel HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 et sur un autre système en gel d'agarose disponible dans le commerce montre une parfaite corrélation entre les deux systèmes d'analyse. La sensibilité de la technique HYDRAGEL 15 & 30 PROTEIN(E) pour l'analyse d'urine concentrée est telle que la limite de détection d'une paraprotéine urinaire est de l'ordre de 0,48 g/l.

PROFIL ÉLECTROPHORÉTIQUE



Détail de la zone alpha-2 :



1 = α2 Macroglobuline
2 = Haptoglobine
3 = Ceruloplasmine
4 = GC Globuline
5 = α1 Lipoprotéine

BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY

1. Brouet J.C. Les cryoglobulinémies. *La Presse Médicale*, 1983, 12, p. 2991 à 2996.
2. Brouet J.C. Orientation diagnostiquée en cas d'anomalies des immunoglobulines plasmatiques (Ig E exclues). *La Revue du Praticien*, n° 9, 21/03/91, p. 782 à 785.
3. Garnier J.P., Laurent D., Clauvel J.P., Danon F., Bousquet B., Dreux C. Dosages des protéines sériques : cause d'erreur en cas d'immunoglobuline monoclonale. *Act. Pharm. Biol. Clin.*, 1987, 4, p. 275 à 278.
4. Guinan J.E.C., Kenny D.F., Gatenby P.A. Detection and typing of paraproteins : comparison of different methods in a routine diagnostic laboratory. *Pathology*, 1989, 21, p. 35 à 41.
5. Keren D. F., "High Resolution Electrophoresis and Immunofixation Techniques and Interpretation", Butterworth-Heinemann, Woburn, Ma, USA, 2nd ed., 1994, 397 pp.
6. Le Carrer D. Gammapathies monoclonales : mise au point sur leur exploration biochimique en 1991 - Première partie : Les techniques de diagnostic protéinologique, principes et limites. *L'Eurobiologiste*, 1991, Tome XXV, n° 194, p. 203 à 212.
7. Le Carrer D. Gammapathies monoclonales : mise au point sur leur exploration biochimique en 1991 - Seconde partie : Diagnostic protéinologique du myélome, de la maladie de Waldenström et des autres gammapathies monoclonales. *L'Eurobiologiste*, 1991,Tome XXV, n° 195, p. 283 à 285.
8. Le Carrer D. Intérêt du profil protéique, cible immunitaire en biologie clinique. *Revue Française des Laboratoires*, 1993.
9. Le Carrer D. Électrophorèse et Immunofixation des Protéines Sériques, Interprétations illustrées. Laboratoires SEBIA, 1994, 120 pp, Ed. Hatier - Paris.
10. Le Carrer D. L'interprétation de l'électrophorèse des protéines. *L'Eurobiologiste*, 1989 - Tome XXIII, n° 182, p. 27 à 33.
11. North M.L. Détection et caractérisation d'une immunoglobuline monoclonale. *Revue Française des Laboratoires*, Mars 1990, n° 203, p. 54 à 58.
12. Peltre G. Électrophorèse, les trois principes de base. *Technique et Biologie*, 1990, 1, p. 16 à 23.
13. Sicard D. Du bon usage de l'électrophorèse des protéines. *Le Concours Médical*, 05.05.90, 1990, 112, 16, p. 1513 à 1515.
14. Van Den Abelle. Électrophorèse des protéines sériques. Intérêt, limites, apport du profil protéique. *Larc Medical,* 1987, n° 7, Vol VI, p. 348 à 351.
15. Wicher J.T., Spence C.E. Serum protein electrophoresis - An out moded test. *Ann. Clin. Biochem.*, 1987, 24, p. 133 à 139.
16. Wendling A. Procédures de diagnostic ou de dépistage : justification et validité d'un test de diagnostic ou de dépistage-sensibilité-spécificité. *Impact-Internat*, Septembre 1986.

SCHÉMAS / FIGURES

Figure 1

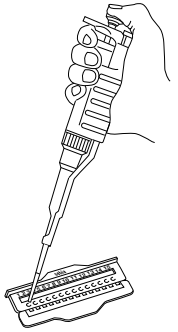


Figure 2

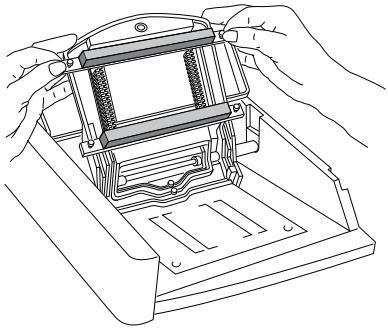


Figure 3

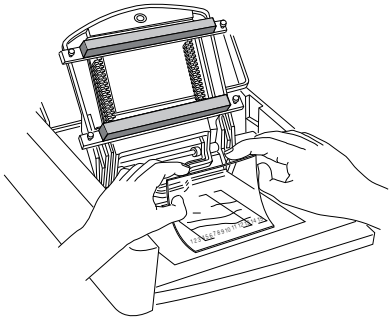


Figure 4

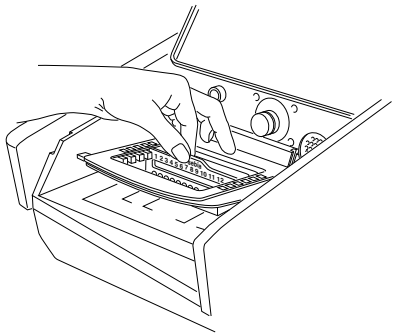
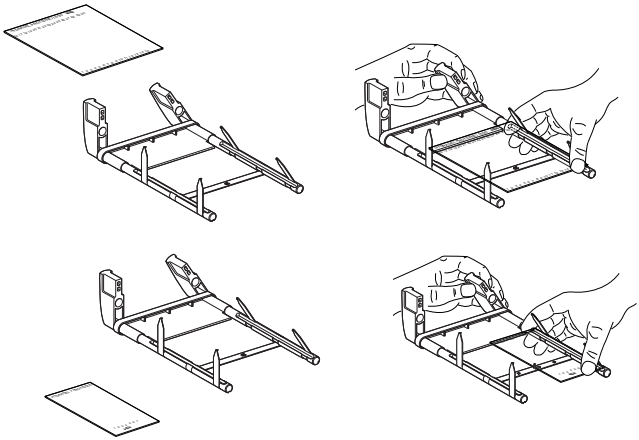


Figure 5

HYDRASYS



SCHÉMAS / FIGURES

HYDRASYS 2